WORLD HEALTH ORGANIZATION

ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ

a 63353

BIBLIOTHÈQUE 7 JAN. 1964 WHO LIBRARY

WHO/Vector Control/29
WHO/Mal/390
22 juillet 1963

ORIGINAL : ANGLAIS

LES EPREUVES PRATIQUEES AVEC LES NECESSAIRES D'EPREUVE DE L'OMS POUR MOUSTIQUES ADULTES : CRITERES A APPLIQUER ET INTERPRETATION DES RESULTATS[1]

par

W. M. Hoskins
Département d'Entomologie et de Parasitologie,
Université de Californie, Berkeley, Californie,
Etats-Unis d'Amérique

L'utilisation des procédures d'épreuves de l'OMS sur les larves et les anophèles adultes repose sur un postulat, à savoir qu'une gamme des concentrations insecticides et une durée de l'exposition qui entraînent, pour les souches sensibles d'une espèce donnée, une mortalité s'échelonnant d'une faible fraction à la totalité, fournissent une courbe de référence à partir de laquelle il sera possible de comparer la réaction de toute autre population d'anophèles. Ces épreuves sont tout à fait arbitraires en ce sens que la gamme des concentrations auxquelles il est possible de recourir dépend de la durée de l'exposition et de la période après laquelle la mortalité est évaluée; ces concentrations seraient évidemment très différentes si les conditions de l'épreuve se trouvaient sensiblement modifiées.

---

[1] Cette étude a bénéficié de l'appui conjoint du Service de Santé publique des Etats-Unis (United States Public Health Service) - qui a attribué une subvention de recherche (No EF 194) fournie par les National Institutes of Health - et de l'Organisation mondiale de la Santé.

Dans la pratique, on s'est heurté à plusieurs difficultés au nombre desquelles il y a lieu de mentionner les suivantes :

a) Aucune espèce, même si elle est placée dans les conditions les plus naturelles, ne réagit d'une manière invariable; par conséquent, la base de la courbe de référence varie en fonction de nombreuses conditions, telles que la saison de l'année, la nutrition, l'intervalle qui s'est écoulé depuis le dernier repas de sang, le stade de développement, l'âge, etc. Les conditions dans lesquelles l'épreuve a lieu affecteront, elles aussi, les résultats - par exemple, la température, l'intensité de la lumière, ou tout autre facteur influant sur l'activité des insectes soumis à l'épreuve.

b) Les populations anophéliennes visées par des mesures de lutte ou par tout autre processus de sélection donnent souvent des courbes de réactions qui diffèrent, non seulement par la position mais encore par la forme, des droites représentatives de la mortalité, exprimée en probits, en fonction du logarithme des concentrations (ld-p), dans la population de référence. Il se produit fréquemment une situation dans laquelle on observe une orientation marquée vers des concentrations plus fortes au-dessus d'une certaine mortalité. Si la ligne devient et reste horizontale jusqu'à la plus forte concentration utilisée, il est manifeste que seule une fraction de l'ensemble du groupe soumis à l'épreuve peut être tuée par la méthode adoptée et il est possible de dire que les survivants sont résistants. Cette situation se présente très fréquemment avec la dieldrine et n'offre pas de difficulté d'interprétation.

Avec le DDT, l'infléchissement de la ligne ld-p est habituellement moins prononcé et on ne l'observe d'abord qu'au niveau des fortes mortalités. Etant donné que, en raison de la méthode graphique, la détermination de l'emplacement des points est plus aléatoire dans cette zone, il se présentera presque certainement une ambiguïté. On a formulé un certain nombre de suggestions pour aider les expérimentateurs qui travaillent souvent dans des installations de fortune avec uniquement les nécessaires d'épreuve fournis par l'OMS.

a) En 1960, on a suggéré les critères suivants : i) s'il n'y a pas d'augmentation de la CL_{100}, c'est que la sensibilité reste constante; ii) s'il y a augmentation de la CL_{100} sans que l'on observe pour autant un nombre significatif de survivants après une heure de contact avec des papiers à 4 % de DDT ou avec des papiers imprégnés à 1,6 % de dieldrine, on dit que la sensibilité est "intermédiaire"; iii) si la moitié, au moins, des individus survit après une heure de contact (sur observation faite 24 heures plus tard), avec des papiers à 4 % de DDT ou avec des papiers à 1,6 % de dieldrine, il faut conclure que la souche est résistante (WHO/Mal/266 Rev.1; WHO/Insecticides/117, 1960).

b) Ces critères ont été modifiés comme suit en vue de tenir compte des différences dans les réactions au DDT et à la dieldrine.

Catégorie	Réaction au DDT	Réaction à la dieldrine
Sensible	CL_{100} voisine de la valeur normale de la courbe de référence (en général, 4 % x 1 h) pour l'espèce considérée; présence occasionnelle d'un survivant, admissible.	Comme pour le DDT : pour la plupart des espèces, la CL_{100} est 0,4 % x 1 h.
Intermédiaire	Une forte proportion mais <, 50 % survivent à la CL_{100} de la courbe de référence; la CL_{50} est en général voisine de la valeur de la courbe de référence.	Comme pour le DDT; mais <50 % de survivants, à 1,6 % x 1 h.
Résistante	50 % ou plus de survivants à 4 % x 1 h (ou quelle que soit la courbe CL_{100} pour l'espèce).	50 % ou davantage de survie à 1,6 % x 1 h.

(Résumé d'après WHO/Mal/325; WHO/Insecticides/129, 1961.)

c) Patel et ses collaborateurs (1961) suggèrent d'adopter les critères suivants pour les femelles A. culicifacies :

i) une mortalité de plus de 75 % après une heure d'exposition à des papiers imprégnés à 2 % de DDT est un indice de sensibilité;

ii) une mortalité de 20 % à 75 % indique une tolérance moyenne;

iii) une mortalité inférieure à 20 % est l'indice d'une résistance.

d) Samnotra (1961) a suggéré une légère variante applicable également à A. culicifacies :

papier imprégné à 2 % de DDT	mortalité >50 %, sensibles
papier imprégné à 2 % de DDT	mortalité <50 %, intermédiaires
papier imprégné à 4 % de DDT	mortalité <50 %, résistantes

La durée de l'exposition étant d'une heure dans tous les cas.

e) Des critères se rapportant en particulier à A. culicifacies et à A. annularis ont été adoptés en 1961 par la Conférence indienne des Entomologistes (Indian Conference of Entomologists) pour le programme national d'éradication du paludisme :

Tolérance - mortalité inférieure à 80 % au contact de papiers imprégnés à 2 % de DDT mais supérieure à 50 % avec des papiers à 4 % de DDT.

Résistance - mortalité inférieure à 50 % au contact de papiers à 4 % de DDT pendant une heure (Krishnamurthy, 1962).

f) En Indonésie, lorsqu'il n'y a pas mortalité totale des A. sundaicus ou A. aconitus à la suite d'une heure d'exposition aux papiers à 4 % de DDT ou aux papiers à 1,6 % de dieldrine, l'expérience est répétée en portant l'exposition à 2 ou à 4 heures (Muir, 1962). Si la mortalité est alors complète, le phénomène est dénommé "vigour tolerance" (tolérance physiologique) et, si la mortalité est de 95 % ou inférieure, on dit qu'il y a résistance.

g) Les critères les plus précis ont été proposés par Davidson (1962). Ces critères reposent sur l'utilisation de concentrations discriminantes ("discriminating dosages"), c'est-à-dire de certaines concentrations de DDT ou de

dieldrine, sur les papiers, qui ont permis, selon des constatations, d'éliminer plus ou moins complètement les individus sensibles, ou les individus sensibles et moyennement résistants d'un groupe soumis à l'épreuve; dans ce dernier cas, seuls restent les insectes les plus résistants. Comme on utilisera, selon les espèces, des concentrations différentes ou des durées d'exposition plus ou moins prolongées, cette méthode, une fois complètement mise au point, convient pour déterminer la composition de l'ensemble de la population plutôt que pour déceler simplement la résistance.

La multiplicité même des critères utilisés par différents expérimentateurs prouve à quel point il est souvent difficile d'interpréter les résultats. Cette difficulté provient, en partie, de la nature de la ligne ld-p qui, en théorie, ne peut être une droite que si la distribution de la sensibilité à l'intérieur d'un groupe testé cadre avec la distribution normale. On a montré que la résistance aux insecticides, chez un nombre d'espèces toujours croissant, est déterminée génétiquement et que le facteur isolé qui intervient dans la plupart des cas est à l'origine de trois génotypes dont les différences en matière de sensibilité se manifestent dans les phénotypes correspondants. Si deux ou même trois génotypes de sensibilité différente sont présents dans un groupe d'insectes, la ligne ld-p qui en résulte ne peut être une droite; elle s'infléchit ou présente des plateaux qui correspondent aux pourcentages du groupe auxquels contribue chaque génotype.

Dans le cas des anophèles femelles, il a été démontré par des tests pratiqués avec les génotypes respectifs, que les trois catégories se différencient nettement par la nature de leurs réactions à la dieldrine, de sorte qu'il est possible de graduer les "concentrations discriminantes" à utiliser a) pour tuer tous les insectes sensibles, en ne laissant survivre que les hybrides et les résistants et b) pour tuer les insectes sensibles et les hybrides, en ne laissant survivre que les résistants. Ainsi donc, la composition d'un groupe quelconque peut être déterminée sans ambiguïté. Toute propriété héréditairement transmissible - à savoir, dans le cas présent, la résistance à l'insecticide - qui se manifeste de cette manière reçoit souvent la dénomination caractéristique de "dominante".

Par contre, chez les anophèles et chez beaucoup d'autres insectes, les génotypes sensibles diffèrent des génotypes hybrides en une moindre mesure; il y a chevauchement dans l'amplitude des réactions aux insecticides. Il ne peut donc y avoir, à proprement parler, de concentration discriminante, mais on utilise parfois une concentration approximative qui tue tous les insectes sensibles mais seulement quelques-uns des hybrides. On use souvent du terme de résistance "récessive" pour caractériser ces cas de sensibilités "à chevauchements". Dans toute épreuve qui porte sur les deux génotypes, la ligne ld-p ne peut être une droite mais doit présenter nécessairement une inflexion correspondant au pourcentage des insectes sensibles présents. La mortalité correspondant à une concentration donnée sera inférieure à celle qui intéresse exclusivement le génotype sensible. La réduction de la mortalité est fonction du pourcentage des hybrides présents, mais cette relation est complexe et l'effet varie selon la concentration utilisée et la pente de la ligne ld-p pour chaque génotype.

Le calcul suivant met en évidence la réaction d'un groupe composé de 80 % d'individus sensibles (CL_{50} = 0,3 %), de 19 % d'hybrides (CL_{50} = 3,0 %) et de 1 % d'homozygotes résistants (qui ne sont pas affectés dans l'intervalle des concentrations). La pente des deux lignes ld-p, qui passent par les points expérimentaux, est de 3,0 (mortalité en probits/log. unité de concentration). Ces données se rapportent typiquement aux femelles A. culicifacies. La mortalité de chaque génotype est le produit de la mortalité, à chaque degré de concentration, telle qu'elle résulte de la ligne ld-p multipliée par le pourcentage du génotype dans le groupe. La mortalité totale est la somme de ces deux facteurs.

(1) Concentration	(2) Mortalité des ss*	(3) x 0,80	(4) Mortalité des sr**	(5) x 0,20	(6) Mortalité totale	(7) Colonnes (2)-(6)
0,1	8,0	6,4	0	0	6,4	1,6
0,2	30,0	24,0	0	0	24,0	6,0
0,3	50,0	40,0	0	0	40,0	10,0
0,5	75,0	60,0	2,0	0,4	60,4	14,6
0,7	86,5	68,8	5,0	1,0	69,8	16,7
1,0	94,0	75,2	12,0	2,4	77,6	16,4
2,0	99,0	79,2	38,5	7,7	86,9	12,1
3,0	100,0	80,0	59,0	11,8	91,8	8,2
4,0	100,0	80,0	72,5	14,5	94,5	5,5

* ss = génotype sensible

** sr = génotype hybride

On peut constater, d'après la colonne 7, que la plus forte diminution de la mortalité se produit avec une concentration voisine de 1 %. Toutefois, la différence est encore marquée avec une concentration de 2 % qui tue la quasi-totalité des individus sensibles. Telle est, sans aucun doute, la raison pour laquelle plusieurs expérimentateurs ont suggéré d'adopter une concentration de 2 % pour différencier les états que l'on a désignés par "sensibilité intermédiaire", "tolérance modérée" ou par des termes analogues. Si le groupe testé comprend une plus forte proportion d'individus possédant un génotype homozygote résistant, la mortalité totale sera réduite encore davantage, notamment avec une concentration de 4 % laquelle est, pour cette raison, particulièrement utile pour dépister la présence d'un haut degré de résistance dans une fraction appréciable (par exemple, 10 à 15 %) d'une population anophélienne.

On pourrait résumer l'exposé ci-dessus en disant que la faible diminution de la mortalité souvent observée avec des papiers imprégnés d'insecticide à 2 % et à 4 %, qui a parfois causé de vives préoccupations aux agents chargés de la lutte contre les moustiques, est simplement l'indice de la présence de certains pourcentages d'hybrides. Dans le cas de la dieldrine, cette présence laisse présager une augmentation rapide de la proportion des individus irréductibles, les hybrides étant, en effet, dans leur quasi-totalité immunisés contre les pulvérisations d'insecticides à des concentrations praticables. Mais, avec le DDT, les hybrides sont tués presque aussi facilement que les autres individus, et un long intervalle peut s'écouler avant que n'apparaisse une population d'homozygotes résistants assez nombreuse pour compromettre l'efficacité de la lutte. Si ces homozygotes sont biologiquement en état d'infériorité, à cause notamment d'un faible taux de reproduction, d'une longévité réduite, etc., il se pourrait que cette efficacité ne fût pas, dans la pratique, sérieusement compromise. On notera que, toutes les fois qu'un génotype présente un tel handicap, la formule de Hardy-Weinberg (ss + 2 sr + rr = 1) n'est pas valable et que la composition d'une population ne peut être évaluée en utilisant une seule concentration discriminante. On peut toutefois la déterminer d'après l'emplacement des inflexions sur l'ensemble de la ligne ld-p. La pratique, qui consiste à exprimer l'état d'une population anophélienne d'une région déterminée, à une certaine époque, en fonction de la proportion de chaque génotype, est un pas dans la bonne direction, à condition que les tests soient pratiqués avec rigueur.

Tout récemment, l'apparition d'une résistance au DDT chez A. culicifacies dans le district de Panchmahals (Etat du Gujerat, Inde) a fait l'objet d'une étude critique de Luen & Shalaby (1962). Le point le plus intéressant est que l'apparition de la résistance chez les femelles A. culicifacies n'a été observée qu'après dix années d'utilisation du DDT. A vrai dire, ce phénomène n'est pas surprenant puisque la campagne intensive de pulvérisations n'a commencé qu'en 1958, à l'époque où le programme d'éradication du paludisme a été lancé. Antérieurement, cette petite fraction d'hybrides de la population avait échappé au dépistage par les tests. Comme, en outre, les femelles évitaient les surfaces traitées où s'en éloignaient rapidement, il n'a pas été possible d'opérer une sélection très rigoureuse.

D'une vaste enquête conduite par Hamon & Garrett-Jones (1963) sur la situation, au point de vue de la résistance à la dieldrine et au DDT chez A. sacharovi, A. stephensi, A. culicifacies, A. sundaicus et A. gambiae dans leurs régions d'habitat respectives, il résulte que l'apparition croissante d'individus résistants dans les populations anophéliennes est fréquemment due à l'emploi de ces insecticides par les agriculteurs. Ce processus se trouve, bien entendu, accéléré par la campagne intensive de pulvérisations menée dans le cadre du programme d'éradication du paludisme. Il est fâcheux que, dans beaucoup de régions impaludées, les ingénieurs agronomes et les agents responsables de la santé publique ne se soient guère mis en rapport pour arrêter de concert leurs programmes respectifs.

Il est possible de formuler quelques conclusions et recommandations :

1. Le nécessaire d'épreuve fourni actuellement par l'OMS pour détruire les moustiques adultes et son mode d'emploi sont satisfaisants, mais l'utilisation d'un papier imprégné à 3 % de DDT serait utile pour renforcer les conclusions qui se dégagent des résultats obtenus avec un papier imprégné à 2 %.

2. Il y aurait lieu de comparer les effets obtenus après une et deux heures d'exposition, afin de déterminer si, dans ce dernier cas, on pourrait obtenir plus de renseignements sur la présence de génotypes hybrides et de génotypes homozygotes résistants.

3. Il y aurait lieu de multiplier les données quantitatives sur les effets des différences de température observées pendant et après l'exposition, car ce facteur peut amener les expérimentateurs à modifier, selon les circonstances, la concentration requise pour obtenir un pourcentage déterminé de mortalité, tel que la CL_{50}.

4. Il faut également enrichir nos connaissances sur les variations saisonnières de la sensibilité de tous les génotypes afin de pouvoir comparer les résultats obtenus à différentes époques de l'année.

5. Il y aurait lieu de déterminer les caractéristiques de la sensibilité des hybrides, notamment de ceux qui résistent au DDT, aussi bien pour les anophèles que pour d'autres espèces qui n'ont pas encore été étudiées.

6. Il conviendrait d'étudier le génotype résistant en ce qui concerne les handicaps biologiques; en effet, de tels renseignements seront utiles pour prévoir la rapidité et l'étendue de l'apparition d'une résistance élevée et sa disparition lorsque la lutte anti-anophélienne prend fin.

7. Il paraît de la plus haute importance de se procurer des renseignements quantitatifs sur le rapport existant entre les résultats obtenus avec les nécessaires d'épreuve, d'une part, et l'efficacité pratique des pulvérisations, d'autre part, compte tenu des complications dues à l'effet irritant qu'exercent sur les moustiques, les dépôts d'insecticides pulvérisés et compte tenu des habitudes endophiles et exophiles différentes des diverses espèces.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Davidson, G. (1962) The interpretation of mosquito susceptibility tests (Communication to WHO)

Hamon, J. & Garrett-Jones, C. (1963) La résistance aux insecticides chez les vecteurs majeurs du paludisme et son importance opérationnelle. Bull Org. mond. Santé, 28(1), 1-24

Luen, S. C. & Shalaby, A. M. (1962) Preliminary note on the development of DDT-resistance in A. culicifacies Giles in Panchmahals District, Gujerat State, India. Bull. Org. mond. Santé, 26(1), 128-134

Muir, D. (1962) Communication personnelle

Patel, T. B., Ramachandra, R. T. & Bhatia, S. C. (1961) Results of a rapid susceptibility survey of Anopheles culicifacies in Bombay State, India, during 1959, revealing continued susceptibility to DDT, except in a few scattered pockets. Indian J. Malar., 15, 57-70

Samnotra, K. G. (1961) Insecticide susceptibility status of A. culicifacies in representative areas of Maharashtra, Gujerat and Rajasthan States. Bull nat. Soc. India Malar., 9, 417-420

Organisation mondiale de la Santé (1960) Sixième résumé des cas de résistance aux insecticides chez les moustiques anophèles (document de travail non publié WHO/Mal/266 Rev.1; WHO/Insecticides/117)

Organisation mondiale de la Santé (1961) Septième résumé des cas de résistance aux insecticides chez les moustiques anophèles (document de travail non publié WHO/Mal/325; WHO/Insecticides/129)

Le but des documents de la Série WHO/Mal est le suivant :

a) mettre le personnel de l'OMS, les instituts nationaux, les chercheurs et les travailleurs de la santé publique au courant de l'évolution des recherches sur le paludisme et des progrès de l'éradication du paludisme au moyen d'exposés succincts relatifs à quelques problèmes en cause;

b) distribuer, aux catégories de lecteurs indiquées ci-dessus, les rapports d'opérations et autres communications qui présentent un intérêt particulier, mais qui ne sont pas normalement imprimés dans les publications de l'OMS;

c) communiquer aux intéressés différents articles qui sont destinés à la publication mais qui, en raison de leur actualité, méritent d'être rapidement connus.

La parution d'un article dans cette série ne constitue donc pas une publication officielle et un tel article peut donc, avec l'accord de l'auteur et de l'OMS, être publié dans un périodique de l'OMS ou ailleurs.

Les articles signés n'engagent que leurs auteurs. La mention des manufactures et des produits commerciaux n'implique pas que ces maisons ou leurs produits soient recommandés ou approuvés par l'Organisation mondiale de la Santé de préférence à d'autres.